BURSA
3. ULUSLARARASI
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR KONGRESİ

22 - 23 Ekim 2022

CONFERENCE BOOK

UBS INSTITUTE









Issued: 15. 11. 2022

ISBN: 978-625-6997-01-1

www.bursakongresi.org

BURSA 3RD INTERNATIONAL SCIENTIFIC RESEARCH CONFERENCE

Edited by

Dr. Nadire Kantarcıoğlu

Khorram Manafidizaji

CONFERENCE ORGANIZING BOARD

Head of CONFERENCE: Dr. Aslı Kaya
Head of Organizing Board: Dr Gültekin Gürçay
Organizing Committee Member: Prof Dr.Hülya Çiçek Kanbur
Organizing Committee Member: Prof. Dr. Həcər Hüseynova
Organizing Committee Member: Doç.F.ü.f.d., İradə Kərimova
Organizing Committee Member: Aynurə Əliyeva
Organizing Committee Member: Prof Dr. Raihan Yusoph
Organizing Committee Member: Dr.Amaneh Manafidizaji
Organizing Committee Member: Dr. Nadire Kantarcıoğlu

All rights of this book belong to Academic Sharing Platform Company Publishing House
Without permission can't be duplicate or copied.

Authors of chapters are responsible both ethically and juridically.

Academic Sharing Platform – 2022 ©

Issued: 15. 11. 2022
ISBN: 978-625-6997-01-1

ABOUT CONFERENCE

BURSA 3RD INTERNATIONAL SCIENTIFIC RESEARCH CONFERENCE

DATE – PLACE

OCTOBER 22 - 23, 2022
BURSA – TURKEY

ORGANIIZATION

USBILIM INTERNATIONAL JOURNAL OF SOCIAL SCIENCES

EVALUATION PROCESS

All applications have undergone a double-blind peer review process.

KATILAN ÜLKELER

Türkiye – Canada – Indonesia – Japan- Cyprus – Italy – Ghana – India – Philippines - East Malaysia. Moscow – France – Nigeria – Iran – Tanzania – Georgia - West Africa – Thailand – UK – Libya – South Africa.- Greece - Poland – Pakistan – Kuwait – Germany – Algeria - Saudi Arabia – Egypt – Tunisia- Sassari- Spain - Kuala Lumpur – Poland – Sokoto – Finland- Zimbabwe- Israel

PRESENTATION

Oral presentation

PERCENTAGE OF PARTICIPATION

45% FROM Turkey And 55% From Other Counteries

LANGUAGES

Turkish, English, Russian

22. 10. 2022 Meeting ID: 843 3500 9771	13: 00 – 15:00 Time zone in Turkey (GMT+3) Passcode: 22231022
HALL: 5 SESSION: 2	MODERATOR: Dr. Nadire Kantarcıoğlu
ABOUREJAL NESRİNE BECHLAGHEM YASMİNE SABRİNA BENDIMERAD AMEL SALİH	EVALUATION DES TAUX DES MÉTAUX LOURDS DANS LES JOUETS DESTINÉS AUX ENFANTS MOINS DE 36 MOIS
ABOUREJAL NESRİNE BENAMARA SALİM HADJ MIMOUNE KHADİDJA GHORZI IKRAM	EVALUATION DES TAUX DE METAUX DANS LE THE
SÜLEYMAN SERDAR PAZARLIOĞLU OĞULCAN ALGAN	HİDROKSİAPATİT-MAGNEZYUM OKSİT İKİLİ KOMPOZİTİNE ÇİNKO OKSİT İLAVESİNİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ
HANDE ZİNCİRKARA AYLA ALTINTEN	POLİLAKTİK ASİT/POLİSTİREN/ÇİNKO OKSİT BİYONANOKOMPOZİT SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU
DİLAN İSKENDER AYLA ALTINTEN	POLİLAKTİK ASİT/ POLİ (STİREN-KO-METİLMETAKRİLAT) /HALLOYSİT NANOKOMPOZİT SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU
TUBA KARACA TUBA HATİCE DOĞAN	YAKIT OLARAK DÜŞÜNÜLEN ATIK TRAFO YAĞINDAN SUYUN ADSORPSİYONU İÇİN İZOTERM İNCELEMESİ
TUBA KARACA TUBA HATİCE DOĞAN	YAKIT OLARAK DÜŞÜNÜLEN ATIK TRAFO YAĞINDAN SUYUN ADSORPSİYONUNUN KİNETİK İNCELEMESİ
SELEN ERKAN ŞAKİR ALTINSOY NURAY BEKÖZ ÜLLEN SEZEN CANIM ATEŞ	Cu-NANOPARTİKÜL KAPLI Ti6Al4V ALAŞIMININ ANTİBAKTERİYEL VE BİYOUYUMLULUK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ
SELEN ERKAN ŞAKİR ALTINSOY NURAY BEKÖZ ÜLLEN SEZEN CANIM ATEŞ	Ti6Al4V ALAŞIMININ Cu-NANOPARTİKÜL KAPLAMA SONRASI YÜZEY VE BİYOKOROZYON ÖZELLİKLERİNİN MODİFİKASYONU
MUHAMMED RAŞİT ÖNER DR. FUAT ERDEN DR. SALİH ÖZBAY	POLİANİLİNİN ORGANİK SOLVENTLER İÇERİSİNDEKİ ÇÖZÜNÜRLÜK DAVRANIŞININ GRAVİMETRİK YÖNTEMLE İNCELENMESİ

YAKIT OLARAK DÜŞÜNÜLEN ATIK TRAFO YAĞINDAN SUYUN ADSORPSİYONU İÇİN İZOTERM İNCELEMESİ **Tuba KARACA, Tuba Hatice DOĞAN**	516
CU-NANOPARTİKÜL KAPLI TI6AL4V ALAŞIMININ ANTİBAKTERİYEL VE BİYOUYUMLULUK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ **Selen ERKAN, Şakir ALTINSOY, Nuray BEKÖZ ÜLLEN, Sezen CANIM ATEŞ**	517
TI6AL4V ALAŞIMININ CU-NANOPARTİKÜL KAPLAMA SONRASI YÜZEY VE BİYOKOROZYON ÖZELLİKLERİNİN MODİFİKASYONU **Selen ERKAN, Şakir ALTINSOY, Nuray BEKÖZ ÜLLEN, Sezen CANIM ATEŞ**	525
POLİANİLİNİN ORGANİK SOLVENTLER İÇERİSİNDEKİ ÇÖZÜNÜRLÜK DAVRANIŞININ GRAVİMETRİK YÖNTEMLE İNCELENMESİ **Muhammed Raşit ÖNER , Fuat ERDEN, Salih ÖZBAY**	538
COĞRAFİ İŞARETLİ BİR ÜRÜN "MALATYA KAYISISI"NIN SOSYOLOJİK AÇIDAN İNCELENMESİ **Jale KARHAN**	544
OSMANLI TÜRKÇESİ DERSLERİNDE ŞİİRLERDE YAŞANAN ŞEKİL VE MUHTEVA SORUNLARI **Mustafa Sarper ALAP**	546
TOPLUMSAL CİNSİYETE DUYARLI KIRSAL KALKINMA POLİTİKALARI: TÜRKİYE ÖZELİNDE BİR DEĞERLENDİRME **Duygu YILDIZ KARAKOÇ**	547
KÜRESEL GÖÇÜN İDARESİNDE ULUSLARARASI AKTÖRLER: BAĞLAYICILIĞI OLMAYAN NORM YAPICILAR **Yelda BEKTAŞ**	561
ŞERMİN YAŞAR'IN TEESSÜF EDERİM MUAZZEZ, YİNE MUAZZEZ, MUAZZEZ VE YELKOVAN ÇETESİ ÖYKÜLERİNDE LİRİK VE İRONİK ÜSLUP İNCELEMESİ **Meliha Tatli**	563
YOL VE YOLCULUK KAVRAMLARI BAĞLAMINDA KEMAL VAROL'UN *ÂŞIKLAR BAYRAMI* ROMANI **Meliha Tatli**	574
SOMALİLİ İNSANLARIN TÜRKİYE'YE GÖÇ VE UYUM SÜREÇLERİ **Pelin Naz YALVAÇ, Özge ÖZKAN, Sümeyra TEMİZHAN**	585
KUTUP HAYVANLARINI TANIYORUM **Hercai Nevruz DEMİRCİ, Sümeyra TEMİZHAN**	586
OSMANLI İMPARATORLUĞU'NUN BİRİNCİ BALKAN SAVAŞI'NDA MAĞLUP OLMASINDA ORDUNUN SİYASALLAŞMASININ ROLÜ **Hakan BADEM**	587
CORPUS STYLISTIC ANALYSIS OF THE SPECIFIC WORDS IN THE DRAMA "LOOK BACK IN ANGER" **Deniz CİVELEK**	588
THE STYLISTIC ANALYSIS OF "THE BELLS" BY EDGAR ALLAN POE **Deniz CİVELEK**	597

Cu-NANOPARTİKÜL KAPLI Ti6Al4V ALAŞIMININ ANTİBAKTERİYEL VE BİYOUYUMLULUK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Selen ERKAN[1], Şakir ALTINSOY[2*], Nuray BEKÖZ ÜLLEN[3], Sezen CANIM ATEŞ[4]

[1]İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, 0000-0002-1174-7914
[2*]İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, 0000-0002-1893-2266
[3]İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Mühendislik Fakültesi, 0000-0003-2705-2559
[4]İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, 0000-0003-2196-7053

ÖZET

Günümüzde malzeme biliminde özellikle biyomalzemeler üzerinde çok büyük gelişmeler yaşanmaktadır. Biyomalzemelerin biyolojik sistemlerle etkileşime girdiğinde uyum içerisinde olmaları ve yan etki oluşturmamaları gerekmektedir. Bu sebepten dolayı biyomalzemeler üzerine yapılan çalışmalar antibakteriyel ve biyouyumluluk etkileri üzerine yoğunlaşmıştır. Ti6Al4V alaşımı, bu alan içerisinde gittikçe artan kullanım alanlarına sahip olmasından dolayı, yüzey özelliklerinin iyileştirilmesi önem arz etmektedir.

Bu çalışmada, Ti6Al4V alaşımının yüzey özelliklerinin, yeşil sentez yöntemiyle elde edilen Moringa-Cu nanopartikülleri (Cu NPs) ile kaplama sonrası, antibakteriyel ve biyouyumluluk çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla; Ti6Al4V numuneleri ortogonal yüzey tornalama işlemiyle kesildikten sonra Cu NPs solüsyonu ile damlatma yöntemiyle tek ve çift kat olarak kaplanmıştır. Karşılaştırma amaçlı kaplama öncesi numunelere de benzer deneyler uygulanmıştır. Elde edilen S. Aureus ve E.coli çözeltisindeki numunelerin sonuçlarına göre; antibakteriyel aktivitenin Moringa-Cu NPs kaplama sonrası değişkenlik göstererek antibakteriyel özelliği olumlu yönde etkilediği görülmüştür. Çift kaplama sonrası elde edilen numunelerin antibakteriyel özelliğinin daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Moringa-Cu NPs ile tek ve çift kaplı Ti6Al4V alaşım numunelerinin kontrol numunesine göre canlılığını koruyarak biyouyumluluğunu iyileştirdiği görülmüştür. Ancak kaplama arttıkça sitotoksik etkinin arttığı görülmektedir. Ayrıca tek kaplamalı, çift kaplamalı ve kaplamasız malzemelerin tümünde gün sayısı arttıkça hücre canlılığının da doğru orantılı olarak arttığı da görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Ti6Al4V, Cu NPs, yüzey kaplama, antibakteriyel, biyouyumluluk.

INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL AND BIOCOMPATIBILITY EFFECTS OF Cu-NANOPARTICLE COATED Ti6Al4V ALLOY

ABSTRACT

Today, there are great developments in materials science, especially on biomaterials. When biomaterials interact with biological systems, they must be in harmony and not cause side effects. For this reason, studies on biomaterials have focused on their antibacterial and

biocompatibility effects. Since Ti6Al4V alloy has increasing usage areas in this field, it is important to improve its surface properties. In this study, antibacterial and biocompatibility studies of the surface properties of Ti6Al4V alloy after coating with Moringa-Cu nanoparticles (Cu NPs) obtained by green synthesis method were carried out. For this purpose; After the Ti6Al4V samples were cut by orthogonal surface turning process, they were coated with Cu NPs solution as single and double layers by dropping method. Similar tests were applied to the samples before coating for comparison purposes. According to the results of the samples in the obtained S. Aureus and E.coli solution; It was observed that the antibacterial activity changed after Moringa-Cu NPs coating and positively affected the antibacterial property. It was determined that the antibacterial properties of the samples obtained after double coating were better. It was observed that Moringa-Cu NPs and single and double coated Ti6Al4V alloy samples improved their biocompatibility by maintaining their viability compared to the control sample. However, as the coating increases, it is seen that the cytotoxic effect increases. In addition, it was observed that cell viability increased in direct proportion as the number of days increased in all single-coated, double-coated and uncoated materials.

Keywords: Ti6Al4V, Cu NPs, surface coating, antibacterial, biocompatibility.

1. GİRİŞ

Biyomalzemeler, insan vücudundaki canlı dokuların zarar görmesi ya da hastalanması durumunda dokunun değiştirilmesi veya desteklenmesi amacıyla insan vücudunun onarımında kullanılan, işlenmiş veya imalat edilmiş malzemeler olarak tanımlanır. Biyomalzemeler doku yüzeyi ile etkileşime girdiklerinde biyolojik reaksiyonlar gerçekleşir ve bu reaksiyonların türüne göre kullanılan malzemeler; biyoinert, biyobozunur, biyoaktif ve biyotolerant malzeme adını alırlar [1]. Biyomalzemelerin kullanım alanları içerisinde tıp ve biyoteknoloji önemli bir yer almaktadır [2]. Üretim teknolojilerinin gelişmesiyle, biyomalzeme üretimi arttıkça malzeme biliminin uygulama alanları genişlemektedir. Biyomalzemeler dokularda farklı yüzeyler ve koşullarda kullanılmaktadır. Biyomalzemelerde aranan özellikler kullanım alanına bağlı olarak değişiklik göstermesi sebebiyle malzemenin karakterizasyon testleri de kullanım alanına bağlı olarak farklılık göstermektedir. Örneğin kemik dokusu için kullanılan bir biyomalzeme yorulma ve mekanik mukavemeti açısından değerlendirilir. Biyomalzemeler yalnızca implant ve protez olarak değil, ekstrakorporeal (vücut dışına yerleştirilen ancak vücut ile etkileşime giren cihazlar), tanı kitlerinde de yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [3].

Son yıllarda araştırmacıların biyojenik nanopartiküllerin sentezinde bitki özlerine ilgileri artmıştır. Bunun başlıca sebebi bitki özlerinin ucuz, seri üretilebilir, özel saklama koşullarına ihtiyaç duymaması, kontaminasyon riskinin olmaması ve zorlu koşullarda (yüksek sıcaklık, geniş pH aralığı ve tuz gibi) çok kararlı olmasıdır [4]. Nanopartiküllerin yeşil sentezinde toksik olmayan, güvenli ve çevre dostu reaktifler kullanılmalıdır. Biyolojik teknik ve yöntemler kullanılarak sentezlenen nanopartiküller, tek adımlı bir yöntem kullanıldığı için daha fazla stabiliteye ve uygun boyutlara sahip olma özellikleri vardır [1]. Doku teması ile biyomalzemelerin yüzeylerinde oluşan zararlı biyofilm tabakaları ciddi klinik enfeksiyonlara sebep oldukları bilinmektedir. Biyouyumluluk en açık şekilde vücudun malzemeyi kabul edebilme kabiliyeti şeklinde tanımlanmaktadır. Biyouyumluluk, uygulanan malzemenin

etkileşim halindeki doku ve organlara istenilen tepkiyi verebilme yeteneğidir [5]. Biyomalzemelerde uyumluluk yapısal ve yüzeysel biyouyumluluk olarak iki türde gerçekleşir. Yapısal biyouyumluluk, etkileşimli doku ve organlarına, mekaniksel davranışına uyumu olarak tanımlanırken; yüzeysel biyouyumluluk fiziksel, kimyasal ve biyolojik açıdan etkileşimli dokuya uygunluk olarak tanımlanmaktadır [6].

Ti6Al4V titanyum alaşımı implant malzeme üretiminde en sık kullanılan titanyum temelli malzemelerdir. Üretilen titanyumun %50 'inden fazlasını Ti6A14V alaşımı oluşturmaktadır. Mukavemet değerlerini yükseltebilmek için bu alaşımlara ısıl işlem uygulanmaktadır [7]. Genel olarak Ti ve alaşımları biyomalzemeler içerisinde gittikçe artan kullanım alanlarına sahip olması sebebiyle, özelliklerinin daha fazla iyileştirilmesi de ön plana çıkmaktadır. Antibakteriyel ve biyouyumluluğunun iyileştirilmesi, bu alanda çalışmayı zorunlu kılmıştır. Bu çalışmada, Ti6Al4V alaşım parçaları Moringa bitkisinden elde edilen Moringa-Cu nanopartikülleri (Cu NPs) ile damlatma yöntemiyle farklı kalınlıklarda kaplanarak antibakteriyel ve sitotoksik testler yapılmış olup vücuttaki ve de implantasyon sırasındaki muhtemel etkisi analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, konuyla ilgili literatür ışığı altında detaylı bir şekilde incelenmiştir.

2. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

2.1. Ön Hazırlıklar ve Kaplama

Bu çalışmada, Varzene Metal San. ve Tic. A.Ş.'den temin edilen 30 mm çapında ASTM standart numarası B348 olan Ti6Al4V titanyum alaşımı çubuklar kullanılmıştır. Ti6Al4V parçalarının ortogonal yüzey tornalama işlemi YouJi Machine İndustrial Co. Ltd. tarafından üretilen CNC tezgâhta yapılmıştır. Tüm işlemlerde kesme sıvısı olarak su ve yağ karışımı kullanılmıştır. İş parçaları 30 m/dak kesme hızı, 0,15 mm/dev ilerleme hızı ve 0,6 mm kesme derinlikleri kullanılarak Ø25x2,5 mm boyutlarında hazırlanmıştır. Görsel 1'de CNC tornalama işlemi sonrası işlenen parçanın görüntüsüne yer verilmiştir. Hazırlanan CuO NPs esaslı moringa ekstratı yeşil sonikasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. 0,08 gr $CuCl_2$, 100 ml damıtılmış suda çözüldü. Daha sonra Cu çözeltisi 10 dak. 25 ºC'de karıştırılmıştır. 0,1gr NaOH, 125 ml damıtılmış suda çözülüp ve 10 dakika 25 ºC'de karıştırılmıştır. İkinci olarak 50 ml moringa ekstratı ile Cu çözeltisi karıştırılıp ve 30 dak. sonikasyon edilmiştir. Sonra ekstrat çözeltiye damla damla 1 ml NaOH çözeltisi eklenmiştir. Sonunda, numuneler steril şırınga filtre kullanarak filtrelenip ve vakum desikatörde 25 ºC'de kullanılana kadar steril cam kaplarda saklanmıştır.



Görsel 1. CNC Tornalama İşleminden Sonra İş Parçasının Görüntüsü.

Bu çalışmada kaplama için hazırlanan Moringa Cu nano partiküllerin çözeltisi Ti6Al4V alt malzeme üzerine uygun miktarda damlatılarak uygulanmıştır. Altlık malzeme yüzey kaplama öncesinde kimyasal çözeltiler kullanılarak temizlenmiştir. Alt malzeme kaplama öncesi Ultrasons H-D modelli P selecta markalı Ultrasonik banyo cihazı içinde temizlenmiştir. Temizleme işlemi sonrası daha temiz yüzeyler elde etmek amaçlı ISO LAB tarafından temin edilen Ethanol kullanılmıştır. Temizlenen Ti6Al4V malzemesi üzerine ISOLAB Pastör Pipeti PE 3 ml kullanarak 0,4 ml hacminde 8 adet damlatma işlemi uygulanmıştır. Kaplama işlemi uygulanan altlık iş parçaları Etüv cihazı kullanılarak 60 ºC de 1 saat süre ile kurutma işlemi uygulanmıştır. Çift kaplamalı iş parçaları için kaplama işlemi aynı şartlar altında tekrarlanmıştır.

2.2. Antibakteriyel Testi

Bu çalışmada antibakteriyel testlerinde, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından kullanımı önerilen duyarlılık özelliği bilinen Staphylococcus aureus (*S. aureus*) (ATCC number: 25923) ve Escherichia coli (*E.coli*) (ATCC number: 8739) suşları kullanılmıştır. *S. aureus* ve *E.coli* şuşlarıyla yapılan çalışmalarda kullanılacak olan Mueller-Hinton broth (MHB) 21 gr ve Mueller-Hinton agar (MHA) 38 gr tartılarak üzerlerine 1000 mL damıtılmış su ilave edilerek hazırlanmıştır [8].

Malzeme numunelerinin Gram-pozitif *S. aureus* ve Gram negatif *E.coli* bakterilerine karşı antibakteriyel özellikleri değerlendirmek için koloni sayma yöntemi kullanılmıştır. Tüm numuneler, deneylerden önce 121°C' de 20 dak. otoklavlama ile sterilize edilmiş ve antibakteriyel çalışma steril ortamda gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan *S. aureus* ve *E.coli* bakteri solüsyonlarından 10 µL alınarak kaplamasız, tek kaplamalı ve çift kaplamalı malzeme numunelerinin yüzeylerine ayrı ayrı damlatılarak inoküle edilmiştir. Bu malzemeler 37 °C'de ve 1 saat boyunca %90'ın üzerinde bağıl nemde inkübe edilmiştir. Daha sonra canlı kalan mikroorganizmaların geri kazanılması için malzeme numuneleri 10 mL MHB besiyeri içeren steril kaplara aktarılmıştır. Bu şekilde 30 dak. oda sıcaklığında tutulan malzeme numuneleri alınarak 0, 2, 4, 8 ve 24. saatlerde 10^{-8}'e kadar seyreltmeler yapılmıştır. Her seyreltiden 100 µl 'lik numuneler alınarak drigalski spatülü ile MHA agar petrilere yayılmıştır. Petriler 37 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra, ortamda gelişen koloni sayısı sayılarak % öldürme 1'deki şekildeki denklem ile hesaplanmıştır.

$$\%öldürme = \frac{\text{kontrol koloni sayısı} - \text{test numunelerindeki koloni sayısı}}{\text{kontrol koloni sayısı}} x100 \quad (1)$$

2.3. Sitotoksisite (MTT) Testi

Metalik malzemenin mekanik özelliklerinin yanında biyouyumluluk özelliği de oldukça önemlidir. Doku yüzeyi ile temasa geçen kaplama malzemesi ve metalik malzemenin doku ortamında pıhtı ve iltihap oluşumu gibi olumsuz etkilere neden olup olmadığını tespit etmek amacıyla biyouyumluluk testlerinin yapılması gereklidir. Bu çalışmada biyouyumluluk testleri ISO 10993-5 biyouyumluluk test standartlarına uygun olarak MTT sitotoksite testi ile L929 fare fibroblast hücreleri kullanılarak yapılmıştır [9]. Numunelerin hazırlanması aşamasında tek kaplamalı, çift kaplamalı ve kaplamasız Ti6Al4V numunelerimiz otoklavda sterilize edilmiştir. Daha sonra üzerlerine 5 ml FBS'siz DMEM F12 besiyeri eklenerek 37 °C'de 7 gün inkübe

edilmiştir. Numunelerle etkileşen besiyerinden 1., 4., ve 7. günlerde örnek alınarak +4°C'de muhafaza edilmiştir. Hücrelerin aktivasyonu aşamasında azot tankından L929 (fare fibroblastı) hücreleri çıkarılıp 37°C'deki suda çözdürülmüştür. 4 ml %10 FBS'li DMEM F12 besiyerine hücreler aktarılıp 1000 rpm'de 5 dak. santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst fazlar uzaklaştırılmıştır. Hücreler 25 cm^2'lik flaska 5 ml %10 FBS'li DMEM F12 besiyeri ile birlikte aktarılmıştır. Hücreler flaskın %90'ını kapladığı zaman besiyeri flasktan uzaklaştırılmıştır ve 1 mL tripsin-EDTA solüsyonu eklenip 5 dak. inkübatörde bekletilmiştir. Hücrelerin yüzeyden ayrıldığı gözlendikten sonra flaska 2 mL besiyeri eklenmiştir ve hücreler falkona aktarılmıştır. Hücreler 1000 rpm hızında 5 dak. santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası dibe çöken hücre peleti besiyeri ile 1 mL'ye tamamlanıp birkaç kez pipetaj yapılarak homojen hale getirilmiştir. Hücre sayımı için ependorfa 50 µl tripan mavisi, 48 µl besiyeri ve 2 µl hücre aktarılmıştır. Ependorftan örnek alınıp Thoma lamında sayım yapılmıştır denklem (2).

$$\text{Toplam Hücre Sayısı} = \text{Ortalama Hücre Sayısı x Seyreltme Faktörü x } 10^4 \quad (2)$$
$$= 2 \text{ x } 50 \text{ x } 10000 = 1.000.000 \text{ hücre}$$

Sayım yaptığımız 1.000.000 hücre, 100 µl'de 10.000 hücre olacak şekilde besiyeri ile 10 mL'ye tamamlanmıştır. Sonrasında her kuyucuğa 10.000 hücre ekilerek 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat inkübasyon sonunda hücrelerin kuyucukları kapladıkları gözlemlenmiştir. Besiyerinin tamamı çekilerek 1., 4. ve 7. günün numunelerinden 100'er µl kuyucuklara eklenmiştir. Bu işlem 8 tekrarlı biçimde yapılmıştır. Hücreler numunelerle birlikte 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 24. saatinde kuyucukların her birine 10 µl steril MTT solüsyonundan (10 mg/mL) eklendikten sonra 4 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda hücre canlılığının göstergesi olan formazan kristallerinin oluşması beklenmiştir. Oluşan formazan kristallerini çözmek için kuyucukların her birine 100 µl DMSO eklenmiştir ve karanlıkta 15 dak. daha bekletilmiştir. Sonrasında mikroplaka 540 nm dalga boyunda ELISA plaka okuyucu cihazında okutularak, kuyucuklardaki absorbans değerleri tespit edilmiştir. Bu absorbans değerlerinden 3'te verilen denkleme göre hücrelerin canlılığı hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Canlılık} = \frac{\text{Deney Grubu Absorbansı}}{\text{Kontrol Grubu Absorbansı}} x100 \quad (3)$$

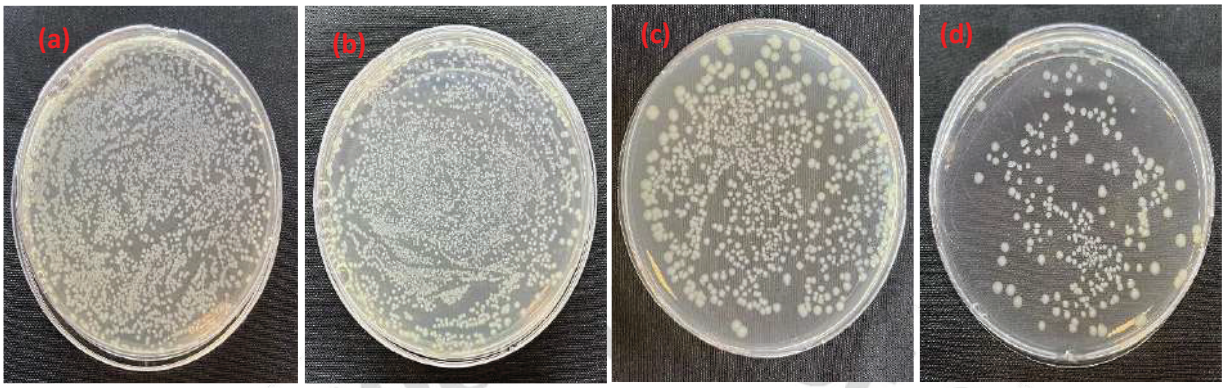
3. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

Bu çalışmada biyoaktivite testleri kapsamında Ti6Al4V alaşımının kaplamasız hali malzeme kontrolünü sağlamak amacıyla test edilmiştir. Ti6Al4V alaşımının Moringa-Cu tek kaplamalı ve Ti6Al4V alaşımının Moringa-Cu çift kaplamalı numuneleri üzerinde antibakteriyel ve sitotoksiste testleri yapılmıştır.

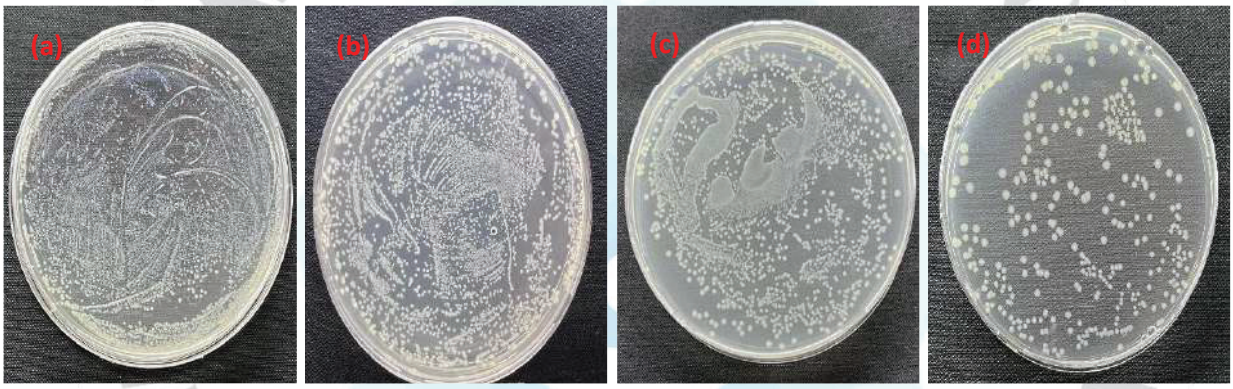
3.1. Antibakteriyel Test Sonuçları

Biyoaktivite testleri kapsamında sadece bakteriler (S. *Aureus* ve *E.coli*) antibakteriyel test kontrolü olarak, Ti6Al4V alaşımının kaplamasız hali malzeme kontrolü olarak ve Ti6Al4V alaşımının Moringa-Cu tek kaplamalı ile Ti6Al4V alaşımının Moringa-Cu çift kaplamalı numunelerinin antibakteriyel testleri yapılmıştır. 24. saatte *E.coli* ve S. *Aureus* numune, kontrol,

tek kaplama ve çift kaplama numunelerinin antibakteriyel test sonuçları sırasıyla Görsel 2 ve Görsel 3'te verilmiştir.



Görsel 2. (a) E.coli Kontrol, (b) *E.coli* Numune Kontrol, (c) *E.coli* Tek Kaplama ve (d) *E.coli* Çift Kaplama Antibakteriyel Test Sonuçları.



Görsel 3. (a) S. *Aureus* Kontrol, (b) S. *Aureus* Numune Kontrol, (c) S. *Aureus* Tek Kaplama Ve (d) S. *Aureus* Çift Kaplama Antibakteriyel Test Sonuçları.

Görsel 2 ve Görsel 3'te verilen; S. *Aureus* ve *E.coli* çözeltisindeki numunelerin sonuçlarına bakıldığında, antibakteriyel aktivitenin kaplama malzemesi Moringa-Cu kaplamasına göre değişkenlik gösterdiği görülmüştür. Numunlerde ortak bulunan Moringa-Cu kaplamalısının antibakteriyel özelliğini olumlu yönde etkilemiştir. En iyi sonuç Moringa-Cu çift kaplamada elde edilirken, en olumsuz sonuç Moringa-Cu tek kaplamada görülmüştür.
Koloni sayılarının yoğunluğu ile canlılık oranı yüksek olduğu için antibakteriyel özellik ters orantıdadır. Alınan sonuçlar numunelerin kaplaması arttıkça antibakteriyel özelliğinin de arttığını göstermektedir.

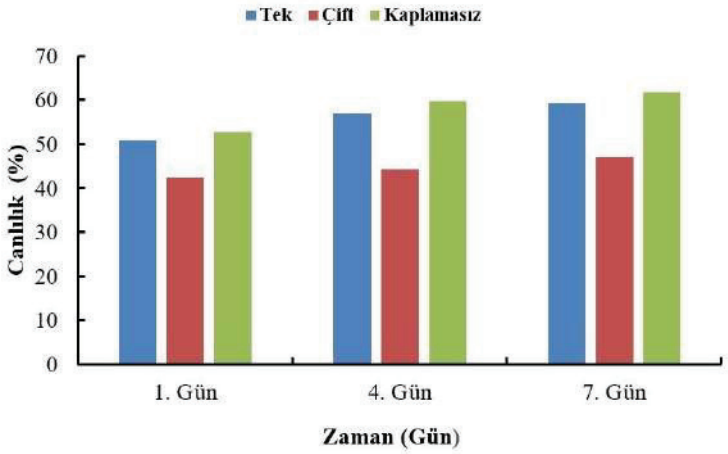
3.2. Sitotoksisite (MTT) Test Sonuçları

2.3. bölümünde anlatıldığı şekliyle numunelerden elde edilen 1, 4 ve 7. gün süpernatantlarının 24 saat inkübasyonu sonrası canlı hücrelerde oluşan MTT formazanlar, kuyucukların tabanında mor kristaller şeklinde görülmüştür. DMSO ilavesi ve bekleme sonrası formazan kristallerin çözülmesini takiben absorbans ölçümü yapılmıştır. UV spektro okuyucuda 540 nm dalga

boyunda yapılan ölçüm sonuçlarına göre elde edilen % canlılık değerleri Çizelge 1'de verilmiştir. Görsel 4'te MTT test sonuçlarının grafik görüntüsü gösterilmiştir.

Çizelge 1. Günlere Göre MTT Testi Sonuçları.

Test	Kaplama, %		
	Çift Kaplama	Tek Kaplama	Kaplamasız Yüzey
1.Gün	42,48	50,78	52,59
4.Gün	44,18	56,99	59,79
7.Gün	47,09	59,33	61,84



Görsel 4. MTT Testi Sonuçlarının Grafik Görünümü.

Görsel 4'te görüldüğü gibi tek ve çift Moringa-Cu nanopartikülleriyle kaplamalı numunelerin kaplamasız kontrol numunesine göre biyouyumluluğu olumsuz etkilenmeyerek canlılığını korumuştur. Ancak kaplama arttıkça sitotoksik etkinin arttığı görülmektedir. Ayrıca tek kaplamalı, çift kaplamalı ve kaplamasız malzemelerin tümünde gün sayısı arttıkça hücre canlılığının da doğru orantılı olarak arttığı da görülmüştür. Bu durum malzememizin vücutta tolere edilebilir bir biyouyumluluğunun olabileceğini göstermektedir.

4. GENEL DEĞERLENDİRME VE SONUÇLAR

Yapılan çalışmalar sonucu antibakteriyel ve biyouyumluluk test sonuçları literatür bilgileriyle desteklenmiştir. Genel değerlendirme ve sonuçlar maddeler halinde aşağıda verilmiştir.

- S. *Aureus* ve *E.coli* çözeltisindeki numuneler, antibakteriyel aktivitenin kaplama malzemesi Moringa - Cu kaplamasına göre değişkenlik gösterdiği görülmüştür. Numunelerde ortak bulunan Moringa-Cu kaplamasının antibakteriyel özelliğini olumlu yönde etkilediği görülmüştür.
- En iyi sonuç Moringa - Cu çift kaplamada elde edilirken, en olumsuz sonuç Moringa - Cu tek kaplamada görülmüştür. Elde edilen sonuçlar göre; numunlerin kaplaması arttıkça antibakteriyel özelliğinin de arttığı tespit edilmiştir.
- Tek ve çift Moringa-Cu nanopartikülleriyle kaplamalı numunelerin kaplamasız kontrol numunesine göre biyouyumluluğunu olumsuz etkilemeyerek canlılığını koruduğu görülmüştür.
- Kaplama arttıkça sitotoksik etkinin arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca tek kaplamalı, çift kaplamalı ve kaplamasız malzemelerin tümünde gün sayısı arttıkça hücre canlılığının

da doğru orantılı olarak arttığı da görülmüştür. Bu durum malzememizin vücutta tolere edilebilir bir biyouyumluluğunun olabileceğini göstermiştir.

TEŞEKKÜR

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Araştırma Görevlisi Rezzan YARDIMCI 'ya yardımlarından dolayı sonsuz teşekkür ederiz.

KAYNAKÇA

[1] Yılmaz, Y., Avcı, B., & Demirören, H., *Biyomalzeme Sektöründe Kullanılan Titanyum ve Alaşımları*, 4 th International Symposium on Innovative Approaches in Engineering and Natural Sciences, November 22-24, Samsun, Turkey, 2019.

[2] Zitter, H. ve Plenk Jr, H., Biyouyumluluklarının Bir Göstergesi Olarak Metalik İmplant Malzemelerinin Elektrokimyasal Davranışı, Biyomedikal Malzeme Araştırmaları Dergisi, **21** (7), 881-896, 1987.

[3] Güven, Ş., Biyouyumluluk ve Biyomalzemelerin Seçimi, Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi, **2** (3), 303-311, 2014.

[4] Shokrani, A., Dhokia, V., & Newman, S. T., Investigation of the Effects of Cryogenic Machining on Surface İntegrity in CNC End Milling of Ti6Al4V Titanium Alloy, Journal of Manufacturing Processes, **21,** 172-179, 2016.

[5] Hench, L. L., and Ethridge, E. C., *Biomaterials: An Interfacial Approach,* Academic Press, New York/USA,1982.

[6] Gümüşderelioğlu, M., Yeni Ufuklara Biyomalzemeler, Bilim ve Teknik Dergisi, 7, 2-5, 2002.

[7] Çetiner D., *Biyomedikal Uygulamalar için ASTM F75 Kobalt-Krom Alaşımının Yüzey Modifikasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2015.

[8] Süer, N. C., Arasoğlu, T., Cankurtaran, H., Okutan, M., Gallei, M., & Eren, T., Detection of Bacteria Using Antimicrobial Polymer Derived Via Ring-Opening Metathesis (Romp) Pathway. Turkish Journal of Chemistry, **45**(4), 986-1003, 2021.

[9] Sharma, K. L., *Biomaterial & Biocompatibility Testing Laboratory*, World Health Organization India, NHSRC, 1-3, 2015.